مروری بر میزان آلوده‌گی افلاتوکسین M_1 در شیر خام

پوهنیار زهرا محمدی[۱۷]
تقریظ‌دهنده:پوهنوال سید عارف احمدی

مجـلهٔ علمی-تحقیقی حـوزهٔ علوم طـبیعی پـوهنتـون کـابـل، ۲ (۳) ۱۳۹۹

چکیده

آلوده‌گی میکروبی یکی از عامل‌های عمده‌ی فا سد شدن مواد غذایی در جهان سوم شمرده می شود که یکی از این آلوده‌گی‌های میکروبی آلوده‌گی قارچی را می‌توان نام برد، زیرا قارچ‌ها آلوده‌کننده‌های مهم فراورده‌های شیری بوده که باعث ایجاد تغییرات مهم در محصولات لبنی از قبیل: تغییرات در طعم، بوی و ضیاع اقتصادی می‌شـود. افلاتوکسـین‌ها می‌تابولیت‌های ثانویه قارچ‌ها بوده که انواع اسـپرژیلوس فالووس و اسـپرژیلوس پارازیتیکوس به عنوان خطرناک‌ترین مایکوتوکسین‌های شناخته شده در انسان و حیوان هستند. بیش از حدود ۲۰ نوع افلاتوکسـین‌ها شـناخته شـده که ۴ نوع AFB_1 ، AFB_2، AFG_1، AFG_2، و AFM_1 AFM_2 اصـلی‌ترین نقش بیماری‌زایی آن شکل سرطان‌زایی آن می‌باشد.

اصطلاحات‌کلیدی: افلاتوکسین؛ ضیاع اقتصادی؛ آلوده‌گی؛ سرطان‌زایی؛ بیماری‌زایی

Review: Study of Aflatoxin M_1 contamination level In Raw Milk

Jr. Teaching Asstt. Dr. Zahra Mohammedi

Abstract

Microbial contamination is one of causes of food spoilage in galaxy. Fungi are common contaminants of dairy products they are capable to spoil dairy products, Such as off-odor, off- flavor and significant food waste and economic losses. Aflatoxins are secondary metabolites of fungi, particularly Aspergillus flavus and Aspergillus parasiticus, that known to be the most dangerous mycotoxin. Among the more than 20 types of aflatoxin identified, four types of AFB_1, AFB_2, AFG_1, AFG_2, and two AFM_1 and AFM_2 have been identified as major contributors to pathogenicity in animals and livestock products, respectively. The carcinogenic role of these toxins recognized in liver target tissue.

Keywords: Aflatoxins; Economic loses; Contamination; Carcinogen; Pathogenicity

ارجاع

محمدی، زهرا. (۱۳۹۹). مروری بر میزان آلوده‌گی افلاتوکسین M_1 در شیر خام. مجـلهٔ علمی- تحـقیقی حـوزهٔ علـوم طـبیعی پوهنتـون کـابل، شماره ۲ (۳)، صص ۱۷۷ – ۱۸۴.

---

[۱] استاد پوهنځی علوم وترنری، پوهنتون کابل

مقدمه

مایکوتوکسین‌ها می‌تابولیت‌های هستند که توسط قارچ تولید شده و اثر سمی‌بالای انسان‌ها حیوانات و مایکروارگانیزم‌ها دارند. در حدود هزار نوع از مایکوتوکسین‌ها شناخته شده اند که حدود ۳۰ تا ۴۰ نوع آن سمی می‌باشد. از میان مایکوتوکسین‌ها، افلاتوکسین‌ها به خاطر اثرات تیراتوژنیک و کارسینوژنیک اهمیت بیشتری دارند و در ایجاد سرطان جگر، هپاتیت مزمن و سیروز جگر مؤثراند. افلاتوکسین M_1 از مشتقات ۴-هایدروکسی افلاتوکسین B_1 می‌باشد که در شیر پستاندارانی که خوراک آلوده به افلاتوکسین B_1 را مصرف می‌کنند، دفع می شود. شیر از جمله محصول است که می‌تواند توسط این سم آلوده گردیده و خطرات جدی را متوجه مصرف‌کننده نماید. عواملی که در تولید مایکوتوکسین‌ها مؤثر اند از جمله عوامل فیزیکی، کیمیایی و بیولوژیکی ذکر کرد (۱۹).آلوده‌گی مواد غذایی توسط قارچ‌های مختلف مساله‌ی مهم در سراسر جهان تلقی شده و حدود ۲۵ درصد از محصولات زراعتی در سرتاسر جهان در معرض آلوده‌گی به مایکوتوکسین‌ها قرار می‌گیرند (۸).

انواع افلاتوکسین

۱. افلاتوکسین B_1 افلاتوکسین B_1 با وزن مالیکول ۳۱۲ و با فورمول $C_{17}H_{12}O_2$ در مقابل نور ماورای بنفش، فلورسنس. این افلاتوکسین به شکل بلورهای کریستالی بی‌رنگی است و در حرارت ۲۶۸-۲۶۹ درجه‌سانتی‌گراد که نقطه‌ی ذوب آن است، تجزیه می‌شود (۲۱).

۲. افلاتوکسین G_1 افلاتوکسین G_1 با وزن مالیکول ۳۲۸ و با فورمول $C_{17}H_{12}O_7$ که در اشعه ماورای بنفش و فلورسنس سبز است. شواهد اخیر نشان می‌دهد که فلورسنس سبز افلاتوکسین G_1 احتمالاً به دلیل ناخالصی زرد رنگی است که می‌توان آن‌را جدا نمود. در واقع افلاتوکسین خالص G_1 فلورسنس آبی از خود نشان می‌دهد. نقطه ذوب این افلاتوکسین ۲۴۴-۲۴۶ درجه‌سانتی گراد می‌باشد (۱۴).

۳- افلاتوکسین P_1 (Furanocoumarin) می‌تابولیتی است که در اثر دمتیلاسیون افلاتوکسین B_1 ایجاد می‌شود. در ادرار حیواناتی چون میمون می‌توان آن‌را دریافت (http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.4588589.html)

۴. اگر افلاتوکسین B_1 به تنهایی یا همراه با افلاتوکسین‌های دیگر در جیره‌ی حیوان به وسیله‌ی حیوانات خورده شود، به توکسین‌های دیگری در ترشحات و انساج آن‌ها تبدیل می شود که دو تا از این توکسین‌ها که در شیر حیوانات مشخص گردیده است تحت عنوان توکسین‌های شیر یا اصطلاحاً افلاتوکسین‌های M_1 و M_2 نامیده می‌شوند، M از کلمه Milk به معنای شیر منشاء گرفته است.

افلاتوکسین‌های M_1 و M_2 از نظر ساختمانی به ترتیب مشتقات ۴ هایدروکسی افلاتوکسین B_1 است و خاصیت فلورسنس افلاتوکسین‌های M_1 و M_2 به ترتیب بیشتر از افلاتوکسین B_1 است و خاصیت سرطان‌زایی، جهش‌زایی و سمیت آن مشابه افلاتوکسین B_1 است، این توکسین بعد از این‌که افلاتوکسین B_1 به وسیله‌ی حیوان خورده شود یا مستقیماً به حیوان تزریق گردد، در ادرار، مدفوع، عضلات جگر و گرده قابل تشخیص و شناسایی است.

افلاتوکسین M_1 شباهت ساختمانی زیادی با افلاتوکسین B_1 و G_2 دارد. حد اوسط، درجه pH برای تبدیل افلاتوکسین B_1 به M_1 در جگر موجودات زنده‌یی نظیر موش، سنجاب، میمون، گاو، مرغ و انسان در سیستم انزایمی NADPH حدود ۸/۹ است. البته جگر بعضی از نوع حیوانات از نظر افلاتوکسین B_1 به M_1 ممکن است فعال‌تر باشند. سمیت حاد افلاتوکسین M_1 و تأثیر آن در ممانعت از کودبرداری RNA و سنتز پروتئین‌ها درست به اندازه‌ی افلاتوکسین B_1 است ولی تأثیر آن بر DNA کم‌تر از افلاتوکسین B_1 می‌باشد.

قدرت سرطان‌زایی افلاتوکسین M_1 قدرت سرطان‌زایی افلاتوکسین B_1 است و قدرت جهش‌زایی آن جهش‌زایی افلاتوکسین B_1 می‌باشد. افلاتوکسین M_1 درجه حرارت پاستوریزاسیون را تحمل می‌کند و بررسی‌های انجام شده با شیرهایی که به‌طور طبیعی و مصنوعی با افلاتوکسین M_1 آلوده شده بودند مقاومت افلاتوکسین M_1 را ثابت کرده اند. افلاتوکسین M_1 درجه حرارت ۶۴ را به مدت ۲ ساعت تحمل کرده و حالت اولیه خود را حفظ می‌کند ولی افزایش درجه حرارت ثبات ساختمانی آن را کاهش می‌دهد.

فرایندهای مختلف حرارتی که برای تهیه‌ی انواع فرآورده‌های لبنی به کار می‌روند، نمی‌توانند پایداری افلاتوکسین M_1 را کاهش می‌دهند و هم‌چنین مشخص شده است که پایداری افلاتوکسین M_1 در طی فرایند حرارتی به نوع آلوده‌گی محصول بستگی ندارد و در شیر با آلوده‌گی طبیعی و مصنوعی مقاومت به حرارت یک‌سانی داشته است. افلاتوکسین M_1 در pH بین ۵ بسیار پایدار است. آزمایشات مختلف در PH های متفاوت این نظر را اثبات کرده است، به نظر می‌رسد که محیط اسیدی برای تجزیه‌ی افلاتوکسین M_1 قدرت نداشته باشد. غلظت‌های بالای آمونیک نیز قادر است افلاتوکسین M_1 را به راحتی در سطوح خارجی‌تر پنیر که آلوده‌گی به افلاتوکسین M_1 را دارند تخریب کند (۳).

۵. افلاتوکسین B_3 همان افلاتوکسین B_1 است که در حلقه سیکلوپنتان آن ایتانول جایگزین شده است و بنابراین، در واقع ٦- متوکسی، ۷- دی فوروکومارین است (۳).

۶. افلاتوکسین Ro یا افلاتوکسین L یا آفلاتوکسیکول می‌باشد که تغییرات عمده‌ای را در پلاسمای موش صحرایی موجب می‌شود و خاصیت سرطان‌زایی دارد (۱۶).

۷- افلاتوکسین $B_{1-2,3}$-oxide در واقع امروزه بر این اعتقاد هستند که این افلاتوکسین شکل فعال یا ماده سرطان‌زایی نهایی حاصل از افلاتوکسین B_1 است. قابلیت پیوند که این ترکیب با مکرومالیکول‌هایی نظیر RNA, DNA و پروتیین‌ها انجام می‌دهد علت اصلی مسمومیت و سرطان‌زایی افلاتوکسین B_1 شناخته شده است (۱۶).

جدول ۱: مشخصات انواع افلاتوکسین

افلاتوکسین	فورمول مالیکولی	وزن مالیکولی	نقطه ذوب (درجه سانتی‌گراد)
B_1	$C_{17}H_{12}O_6$	312	268-269
B_2	$C_{17}H_{14}O_6$	314	286-289
G_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	244-246
G_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	237-240
M_1	$C_{17}H_{12}O_7$	328	299
M_2	$C_{17}H_{14}O_7$	330	293
B_{2a}	$C_{17}H_{14}O_7$	330	240
G_{2a}	$C_{17}H_{12}O_8$	346	190
R_0	$C_{17}H_{16}O_6$	314	230-234
B_3	$C_{17}H_{14}O_6$	302	233-234

(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov)

جدول ۲: تأثیرات جانبی سم افلاتوکسین بالای بدن انسان

افلاتوکسین	نوع قارچ	تأثیرات جانبی سم بالای بدن انسان
B_1	A. flavus, A. parasiticus, A. nomius, A. bombycis	Hepatotoxic, genotoxic, carcinogenic, immunomodulation
B_2	A. flavus, A. parasiticus, A. nomius, A. bombycis	Carcinogenicity
G_1	A. parasiticus, A. nomius,	Carcinogenicity
G_2	A. parasiticus, A. bombycis	Carcinogenicity
R_0	Rhizopus spp	Mutagenic, carcinogenicity

(https://www.intechopen.com/books/aflatoxins)

انتقال افلاتوکسین از جیرهی غذایی حیوان به شیر حیوان

تحقیقات مختلف بر روی جیرهی غذایی حیوان نشان داده است که آلودهگی جیرهی غذایی حیوان به قارچ و خصوصاً نوع اسپرژیلوس سبب تولید افلاتوکسین و انتقال آن به شیر و محصولات لبنی می شود. بسیاری از محصولات زراعتی که در تهیهی جیره غذایی حیوان استفاده می شوند، آسیبپذیری زیادتر مقابل قارچ و میتابولیتهای آن دارند(۱۰). در غلات مانند جو، گندم، برنج وسویا، پنبه وغیره قارچها به آسانی در حین برداشت و فرآوری محصول، حمل و نقل و ذخیره رشد نموده و سبب تولید افلاتوکسین میگردند. مصرف جیرهی آلوده به آفلاتوکسینهای B_1 و B_2 توسط گاوهای شیری سبب هایدروکسیلهشدن این سموم و تبدیل به افلاتوکسینهای M_1 و M_2 میشود که در شیر قابل ردیابی میباشند (۱۱، ۴) و ممکن است در فرآوردههای لبنی بهدست آمده از حیوانات که از غذای آلوده استفاده کرده اند، پیدا شود. زمانی که حیوانات مواد خوراکی که آلوده به AfB_1 میباشد میخورند، این سموم در اثر میتابولیزم به شکل AfM_1 تبدیل شده و در شیر آنها وارد میشود (۵، ٦). و این تنها راه برای تبدیل AfB_1 به AfM_1 میباشد.

افلاتوکسین M_1 میتواند ۲۴-۱۲ ساعت بعد از ورود AfB_1 به بدن حیوان در شیر تشخیص داده شود و بعد از چند روز به سطح بالایی خواهد رسید. وقتیکه جذب افلاتوکسین B_1 خاتمه یافت، غلظت افلاتوکسین M_1 در شیر بعد از ۷۲ ساعت به سطح غیر قابل تشخیص کاهش مییابد (۹). در مقابل تغیرات حرارتی از قبیل پاستوریزه کردن، استریلیزاسیون، اتوکلاو و دیگر روشهای حرارتی مقاوم بوده و تأثیری در کاهش سم نخواهد داشت (۷، ۸).

میزان آلودهگی شیر خام در فصل تابستان، خزان و زمستان بیشتر از سایر فصلهای سال میباشد، به علت عدم در دسترس بودن علوفه و همچنین استفاده از علوفه انبار شده و عدم رعایت شرایط نگهداری مناسب در انبارها میباشد. همچنین وجود رطوبت و حرارت لازم برای رشد قارچهای اسپرژیلوس در فصلهای خزان و تابستان از علل بالاتر بودن میزان آلودهگی به آفلاتوکسین نسبت به فصلهای دیگر سال میباشد (۱۸).

چنانچه قارچها در حرارت هوا که ۲۷ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۸۵ درصد شرایط مناسبی را جهت رشد آسپرژیلوس فراهم مینماید. نگهداری علوفهحیوان در شرایط نامناسب محیطی سبب رشد قارچ اسپرژیلوس و متعاقب آن ایجادافلاتوکسین B_1 در خوراك حیوان و انتقال آن به شکل آفلاتوکسین M_1 به شیر حیوان میشود. آسپرژیلوس فلاووس و پارازیتیکوس میتوانند به راحتی در علوفههای که ۱۳ تا ۱۸درصد رطوبت دارد و نیز در رطوبت محیطی ۵۰ تا ٦۰ درصد

به راحتی رشد نمایند و سم تولید کنند. علاوه بر رطوبت و حرارت، پارامترهای دیگری مانند pH خوراك و تخریب میکانیکی آن نیز در رشد قارچ‌ها نقش دارند.

در ایالات متحده‌ی آمریکا انجمن غذا و دارو یک حد کلی ۲۰ نانوگرام در گرام را برای آلوده‌گی‌های افلاتوکسین در غذاهای مورد مصرف حیوان و ۰/۵ میکروگرام در کیلوگرام یا ۵۰-۵۰۰ نانوگرام در لیتر افلاتوکسین در شیر را به عنوان حد مجاز مصرف بیان کرده است (۱۷).

طبق گفته‌های Carvajal و همکاران (۲۰۰۳) در بعضی نقاط جهان آلوده‌گی به افلاتوکسین M_1 مشکل جدی بهداشتی محسوب نمی‌گردد اما آلوده‌گی به این سم گزارش گردیده است. نمونه‌برداری شیر از سوپرمارکیت‌های شهر برازیل نشان داد که در حدود ۲۱ درصد نمونه‌ها به افلاتوکسین M_1 آلوده بودند و مقدار آن برابر ۲۴-۵۰ نانوگرام در لیتر بوده است (۱۹، ۲۰). بررسی‌های که بالای شیر خام در کشور مکزیک صورت گرفت، ۴۰ درصد نمونه‌های جمع‌آوری شده‌ی شیر بیشتر از ۰/۰۵ درصد میکروگرام در لیتر حاوی افلاتوکسین M_1 بوده اند (۱۸).

Deshpande و همکاران آن در سال (۲۰۰۲) گزارش‌های زیادی در مورد مسمومیت، بیماری و مرگ حیوانات و انسان‌ها در اثر مصرف مواد غذایی آلوده به آفلاتوکسین وجود دارد. مبتلا شدن ۱۹۷۴ نفر به آفلاتوکسیکوز و مرگ ۱۰۸ نفر از آن‌ها در کشور هند بر اثر دریافت روزانه ۲-۶ میلی گرام افلاتوکسین در چند هفته (۱۲) و هم‌چنین بیماری ۴۰ نفر و مرگ ۱۳ کودك در کشور مالزیا با مصرف ماکارونی آلوده به افلاتوکسین از آن جمله اند (۱۳).

بنابراین، می‌توان با کنترل شرایط محیطی محل نگه‌داری خوراك حیوان می‌توانیم از آلوده‌گی قارچی در شیر جلوگیری نماییم و هم‌چنان از طریق عدم استفاده از محصولات آلوده‌ی لبنی توسط مصرف‌کننده‌ی آلوده‌گی قارچی را جلوگیری نماییم.

نتیجه‌گیری

برررسی‌ها موجودیت سم آفلاتوکسین M_1 را در شیر تتأیید می‌کند و درصد آلوده‌گی نمونه‌های (محلی و پاستوریزه) در فصل زمستان بیشتر از تابستان است. بنابراین، می‌توان با کنترل شرایط محیطی محل نگه‌داری خوراك حیوان از آلوده‌گی قارچی در شیر جلوگیری نماییم و یا از طریق عدم استفاده از محصولات آلوده‌ی لبنی توسط مصرف‌کننده از آلوده‌گی قارچی جلوگیری نمود. هم‌چنان با استفاده از تکنالوژی مدرن توسط متخصصین و اعمال قوانین و مقررات در ارتقاء کیفیت شیر دریافتی جامعه و غذای حیوانی مقدار سم را کنترل و حتی کاهش داد.

منابع

(1) Pubchem. Explore Chemistry. (2020). Available online: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov (accessed on 2020)

(2) Chemspider. Search and Share Chemistry. (2020. Available online: http:// www. chemspider.com (accessed on 2020)

(3) J. C. Frisvad, V. Hubka, C. N. Ezekiel, S. B. Hong, A. Nováková, A. J. Chen, M.Arzanlou, T. O. Larsen, F.Sklenář, and W. Mahakarnchanakul, Taxonomy of Aspergillus section Flavi and their production of aflatoxins, ochratoxins and other mycotoxins. Stud. Mycol. 2019; 93, pp 1-63.

(4) M. B. Faletto, P.L.Koser, N.Battuta, G. K. Townsend, A. E. Maccubbin, H. V. Gelboin, Cytochrome P3- 450 CDNA encodes aflatoxin B1 hydroxylase, J Bio chem. 1988; 263, pp 12187-9.

(5) I. Bakirci, A study on the occurrence of aflatoxin M_1 in milk and milk products produced in Van province of Turkey, food con. 2001; 12, pp 47-51.

(6) C. Lopez, L.Ramos, S. Ramadan, L. Bulacio, J. Perez. J. food Micro. 2001; 64, pp 211-5.

(7) D .L. Park, Effect of processing on aflatoxin advances in Experimental Medicine and biology. 2002; 504, pp 173-9.

(8) H. P. Van Egmond, Current situation on regulations for mycotoxins overview of tolerances and status of standard method of sampling and analysis. Food additives and contaminants. 1989; 6, pp 139-88.

(9) R. Alcroft, R.B.A.Carnaghan, Groundnut toxicity: Aspergilus flavus toxin (aflatoxin) in animal products. Preliminary communication; Vet Rec. 1962; 74, pp 863-864.

(10) E. Chiavaro, C. D. Asta, G.Galaverna, A.biancardi, E.Gambarelli, Dossena, A. New reversed-phase liquid chromatographic method to detect aflatoxin in food and feed with cyclodextrins as fluorencence enhancer added to the eluent. J Chromatogrm. 2001; 937, pp 31-40.

(11) S .S. Deshpande, Fungal Toxins. In S.S. Deshpande Handbook of food toxicology, 2002; P 387-456.

(12) J. M. Concon, Contaminates and additives' Food toxicology, Part B. New York: Marcel Dekker Inc. 1988, pp 667-743.

(13) A. J. Chen, Frisvad, J. C. Sun, B. D. Varga, S.Kocsube, Dijksterhuis, Kim, DH., Hong, S.B., Houbraken, J., Samson, RA. Aspergillus section Nidulantes (formerly Emericella): Polyphasic taxonomy, chemistry and biology. Stud. Mycol. 2016; 84, pp1-118.

(14) S. Deshpande, Fungal toxins. In Handbook of Food Toxicology, CRC Press: Boca Raton, FL, USA. 2002, pp 387-456.

(15) N. Benkerroum, Aflatoxins: Producing-Molds, Structure, Health Issues and Incidence in Southeast Asian and Sub-Saharan African Countries, Environmental research and public health. 2020, pp 4-6.

(16) R. S. Adams, B. K. Kenneth, A. I. Virginia, J.H. Lawrence, W.R. Gregory, Mold and mycotoxin problems in Livestock feeding, College of Agricultural Science, Penn State University Das. 1993, p 125.

(17) J. L. Blanco, L.Dominguezs, E. Gomez-lucia, J. F. Garayzabal, J. A. Garcia, Suarez, G. Presence of aflatoxin M_1 in commercial UHT treated milk, Applied Environmental Microbiology. 1988; 54 (6), pp 1622-3.

(18) E. Panariti, Seasonal variations of aflatoxin M1 in the farm milk in Albania. Arh Hig Rada Toksikol. 2001; 52, pp 37-41.

(19) N. S. Garrido, M. H. Iha, M. R. Santos Ortolani, R.M. Duarte Favaro, Occurrence of aflatoxins M (1) and M (2) in milk commercialized in Ribeirao Preto-SP, Brazil. Food Addit Contamination. 2003; 20, pp 70-3.